



33
Zej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**“USO DE BACTERINAS Y TOXOIDES EN EL
TRATAMIENTO DE LA Pioderma Crónica
EN LA ESPECIE CANINA”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A
MIGUEL ANGEL FERNANDEZ VALIÑAS

ASESOR DE TESIS:
M.V.Z. LEONEL PEREZ VILLANUEVA

Cuautitlán Izcalli, Estado de México 1987



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
TOXOIDES.....	6
MATERIAL Y METODOS.....	12
RESULTADOS.....	16
DISCUSION.....	19
CONCLUSIONES.....	20
BI BLIOGRAFIA.....	21

RESUMEN

Se realizó un estudio en doce perros que presentaban lesiones crónicas de la piel, de aspecto circular, pruriginosas y rodeadas de una zona de hiperqueratosis (Bull-Eye Lesion) , se practicó cultivo bacteriano obteniéndose de él toxoide y bacterina, aplicando estos durante un período de tres semanas, obteniéndose una resolución del 100% de los casos.

En ninguno de los casos se presentó reacción adversa al tratamiento.

En el 100% de los casos se evitó la recurrencia de las lesiones durante los tres meses posteriores al tratamiento.

INTRODUCCION

Una de las causas más comunes de consulta en la clínica canina es la infección piógena de la piel, también llamada pioderma.

Los microorganismos más comunmente aislados de las piodermas comprenden: (1,8,10,14,17,19,21)

Staphilococcus aureus

Staphilococcus epidermidis

Streptococcus sp

Corynebacterium sp

Pseudomona sp

Proteus vulgaris

Las piodermas pueden clasificarse en dos tipos básicos: Piodermas superficiales y profundas. (1,8,10,17,19,20,21,29)

Las entidades consideradas como pioderma superficial incluyen solo la epidermis, son de corta duración y no afectan a los nódulos linfoides, rara vez producen signos sistémicos. (8,10,17,19)

La reacción fundamental de la piel es similar en todas las piodermas superficiales, generalmente hay infiltrado compuesto de polimorfonucleares, histiocitos , células del plasma, células cebadas y gran cantidad de bacterias, es frecuente el edema epidermal, espongiosis y dilatación vascular, la lesión está rodeada de tejido normal. (5,8,15)

Las principales piodermas superficiales son:

Dermatitis húmeda: Es una inflamación aguda y dolorosa de la piel como resultado de un autotrauma con infección bacteriana secundaria. (8.17,19,29)

Las lesiones tienen un rápido desarrollo, son bien demarcadas, rojas y húmedas, la incidencia aumenta en épocas de calor y humedad.

Pioderma Pustular Superficial (Impétigo): Dermatitis de perros jóvenes, caracterizada por pústulas subcórneas de las que al

romperse escurre un exudado amarillento formándose costras de color miel.

La infección se observa principalmente en cachorros, generalmente en la zona del abdomen, axilas y región inguinal.

No hay prurito, se presenta poco dolor y el curso de la enfermedad es corto. (8,17,19)

Foliculitis: Inflamación de la piel con la localización de un exudado inflamatorio alrededor de los folículos pilosos, se presenta más comunmente en razas de pelo corto, localizándose en el dorso y en las superficies laterales de las extremidades. (8,17,19)

Acné: Se caracteriza por la presencia de comedones, pápulas y pústulas en áreas localizadas, es más común en razas de pelo corto, las zonas de la piel ricas en glándulas sebáceas están predispuestas, es más común en animales jóvenes. (8,17,19)

Pioderma de los pliegues: Inflamación superficial de la piel cuando está se encuentra en aposición, hay cuatro áreas predispuestas en el cuerpo; facial, labial, vulvar y de la cola. (8,17,19)

PIODERMAS PROFUNDAS: Las entidades aquí consideradas envuelven comúnmente la piel y hasta el tejido subcutáneo.

Son frecuentemente crónicas, de difícil tratamiento y las lesiones son extensas y recurrentes. (8,12,17,19,20,28,29)

Las principales entidades consideradas como piodermas profundas son:

Pioderma juvenil: Afecta cachorros de menos de cuatro meses, es usualmente una infección supurativa profunda, las lesiones son edematosas, el área está roja y dolorosa, los ganglios locales están inflamados. (8,17,19)

Pioderma nasal: Las lesiones se inician como pápulas, progresan hacia pústulas, el desarrollo es rápido y el curso de la enfermedad es largo, debe de diferenciarse de trauma y de dermatitis solar. (8,17,19).

Pioderma de los callos; El continuo trauma sobre los callos provoca irritación de estos favoreciendo la infección bacteriana, las razas grandes y pesadas están predispuestas. (8,17,19)

Pioderma interdigital: Infección de las patas generalmente en razas de pelo corto, las lesiones nunca con quísticas, se considera que la infección bacteriana no es primaria sino que es a consecuencia de una herida o de un cuerpo extraño, por lo general este padecimiento es de muy difícil tratamiento. (8,17,19)

Pioderma generalizada: Es una de las enfermedades más graves de la piel pústulas, fístulas y furúnculos se desarrollan en forma generalizada afectando sobre todo las superficies laterales y la zona del abdomen (8,17,19)

Todas las entidades anteriormente citadas poseen una patogenia común dentro de la cual se pueden considerar los siguientes factores:

La bacteria causa necrosis del tejido, acumulacion de pus e inflamación, las toxinas producen vasoconstricción en el area causando trombosis y una zona avascular alrededor del sitio de la infección.

A causa de la pobre circulación son obtenidos niveles muy bajos de antibiótico en la zona, por lo anterior se deduce que es importante la utilización de altas concentraciones de antibiótico en las fases tempranas de la enfermedad.. (2,3,8,11,19,20,21,23,24)

Los antibióticos que frecuentemente son efectivos incluyen; ampicilina, cloramfenicol, eritromicina, oxacilina, cefalosporina y gentamicina (9,11,14,18,21,22,30)

La prueba de sensibilidad bacteriana es frecuentemente necesaria para la adecuada selección del antibiótico.

TOXOIDES

Algunas bacterias, principalmente los estafilococos (responsables en un 90 % de las piodermas), pueden producir la enfermedad tanto por su

capacidad de multiplicarse como por la producción de diversas sustancias entre estas; (3,6,14,18,19,21,22,24,25,30)

Exotoxina: Es un material filtrable, termolábil, letal por inoculación parenteral, que provoca necrosis de la piel y contiene diversas hemolisinas solubles, posee una poderosa acción de contracción sobre los vasos sanguíneos. (6,14,19,22,24,25,30)

Leucocidina: Material soluble, destruye a los leucocitos de diversas especies, es antigénica y termolábil, su papel dentro de la patogenia de la enfermedad es incierto, se ha demostrado que los estafilococos productores de leucocidina son capaces de una multiplicación intracelular muy activa. (6,14,19,22,24,25,30)

Enterotoxina: Material soluble producido por algunas cepas de estafilococos, termoestabil y determina uno de los cuatro tipos antigénicos A-D . (6,14,19,22,24,25,30)

Coagulasa: La mayoría de los estafilococos patógenos producen esta sustancia, la coagulasa puede depositar fibrina en la superficie de los estafilococos alterando de esta forma su ingestión por las células fagocitarias.

Se sabe que los estafilococos tienen la capacidad de producir una hialurodinasa o factor de propagación y una toxina exfoliativa. (6,14,19,22)

Debido a la dificultad del tratamiento de todas las piodermas en general y a la recurrencia de las lesiones tiempo después del tratamiento antibiótico, se ha pensado en la posibilidad del aislamiento del agente causal para elaborar una bacterina y un toxoide que permitan crear en el paciente una respuesta inmune que evite la recurrencia de la enfermedad.

Los toxoides se preparan a partir de toxina potente que es inactivada con formalina y la fracción antigénicamente activa es precipitada con alúmina y resuspendida en solución salina isotónica, (7,13,21,25

Las toxinas pueden perder su toxicidad sin perder su antigenicidad, de esa forma pueden continuar estimulando a la producción de anticuerpos pero cesando sus efectos tóxicos. (7,13,21,25)

Esto fué descubierto por Erlich en 1901, quién dió el nombre de toxoide al antígeno detoxificado. (4)

En 1909 Lowenstein descubrió que la toxina puede ser inactivada con formaldehído, esto fué confirmado en 1921 por Blenny y Sudmersen y por Ramon en 1923. (4)

Ramon (1923) descubre que los toxoides son generalmente más estables que las toxinas y su solubilidad es diferente. (4)

Baker (1973) recurre al uso de toxoides como tratamiento alternativo de las piодermas crónicas obteniendo un porcentaje de éxito de alrededor del 87%. (3,17,21)

En general los toxoides se preparan incubando solución de toxina con 0.1-0.2% de formaldehido a un ph de 6.9 y a una temperatura de 37 grados centígrados, pasando después por pruebas de inocuidad. (4,13,14)

La toxina por lo general es aislada por cromatografía a partir del cultivo bacteriano (4,13,14)

Cada ml. de toxoide contiene una unidad internacional de toxina equivalente a 0.0628 mg de toxina desecada. (14)

Se entiende por bacterina la preparación biológica a base de cuerpos bacterianos con su complejo antigénico íntegro, poseedores de función antigénica e incapaces de producir la enfermedad. (4,5,6,7,24,25,30).

La técnica general de preparación de una bacterina comprende:

Selección de cepas con sus propiedades biológicas a la máxima potencia, aisladas del animal al que han de ser aplicadas. (4,5,6,7,24,30)

Producción masiva de células en un medio idóneo para su propagación.

Inactivación de los gérmenes pudiendo ser por calor (60 grados centígrados durante treinta minutos) o por medios químicos (formaldehído al 0.2%) (7,14,30)

Precipitación con adyuvantes. Dilución adecuada para obtener la concentración precisa de gérmenes, se realiza por turbidometría. (9,14,30)

Control de Calidad: Debiendo considerarse dentro de este aspecto:

- A) Pureza
- b) Estabilidad
- C) Inocuidad
- D) P.H.
- E) Potencia

Envase en recipientes adecuados (ampulas o frascos de tapón perforable. (7,9)

Conservarse en refrigeración a 4 grados centígrados hasta el momento de su aplicación.

Una bacterina posee la capacidad de estimular al sistema inmune contra los antígenos del cuerpo bacteriano, pero no tiene la capacidad de producir la enfermedad en el hospedero, de esa forma se desarrolla una respuesta inmune que protegerá al hospedero contra una posible invasión futura por bacterias patógenas. (4,-,14,27,30)

El aplicar una bacterina cuando la enfermedad ya esta presente (como en el caso de la pióderms crónica) , tiene por objeto sobreestimar al sistema inmune para poder brindar una respuesta adecuada a la infección. (4,14,27,30)

El propósito de este trabajo es determinar la eficacia al tratamiento de la pióderma crónica aplicando una serie de sensibilizaciones usando una combinación de bacterina y toxoide teniendo como objetivos:

- 1.- Determinar si el uso de los ya citados toxoides y bacterinas es eficaz para la resolución de la enfermedad.
- 2.- Conocer el número de desafíos necesarios para lograr la resolución total del proceso.
- 3.- Identificar los agentes causales más comunes y:
- 4.- Valorar la viabilidad económica del proceso.

MATERIAL Y METODOS

Quince perros fueron tratados durante el período de Enero a Julio de 1986 en la zona norte del D.F.

Los animales seleccionados para este estudio fueron escogidos basándose en los siguientes criterios:

- A) Presencia de lesiones de tipo pustular, de curso crónico y refractarias a tratamientos anteriores.
- B) En las lesiones de curso más crónico se presentaban de aspecto circular, rodeadas de hiperqueratosis. (Bull-Eye Lesion)
- C) Resistencia de la enfermedad al tratamiento antibiótico.
- D) Recurrencia de las lesiones posteriormente al tratamiento.
- E) Resultados negativos a pruebas de parásitos y hongos en piel.

El promedio de edad de los animales sometidos al estudio fue de 2.8 años con un rango de 1-4 años.

La mayoría de los casos se presentaron en perros de más de dos años.

El 90 % de los casos eran machos y el 10% eran hembras.

A los animales afectados les fue practicado un cultivo bacteriológico de 1- zon- afectada bajo la técnica automatizada MS-2 que consiste en:

Realizar el cultivo de la bacteria en tres medios específicos como lo son; Agar Sangre, Agar Mc Conckey y Agar Manitol, una vez realizada la siembra se realiza una suspensión bacteriana calculando aproximadamente 50 millones de bacterias por ml. de solución bajo la técnica de nefelometriá que consiste en apreciar el brillo de la luz reflejada por las partículas de un tubo de suspensión comparado con la solución tipo.

Para tipificar, una vez preparada la solución se inocula en trece sustratos que son: Glucosa, Lisina, Ornitina, Citrato, Lactosa, Riboda, Malato, Urea, Arabinosa, indol, Manitol y Sacarosa.

Se homogeniza la solución y se h-ce la lectura por fotocolorimetría de inmediato, después de esto sr incuba durante cinco horas y se vuelve a hacer la lectura para ver si se realizó o no el aprovechamiento de los sustratos por la bacteria, una vez realizado esto y por medio de sistemas de computación y en base a los datos que se encuentran almacenados en

la memoria se obtiene el nombre del género y especie de la bacteria en cuestión, dando la misma computadora el porcentaje de seguridad debiendo ser del 90% o más, si no se obtiene este porcentaje de seguridad puede deberse a contaminación de la muestra por lo que será necesario reprecisarla.

Una vez realizado el cultivo e identificada la bacteria se realizó una prueba de sensibilidad mediante la técnica de antibiograma.

A partir del cultivo bacteriano fue aislada la toxina producida por las bacterias causales, la toxina es aislada por cromatografía y detoxificada con formalina mientras que la fracción antigénicamente activa es precipitada con alúmina y resuspendida en solución salina isotónica.

Partiendo del cultivo bacteriano fue realizada una bacterina obteniendo las bacterias del medio e inactivándolas con calor a 60 grados centígrados durante 30 minutos y siendo sometidas a pruebas de inocuidad.

Una vez obtenida la bacterina, el toxoide y el antibiograma les fue aplicado el siguiente tratamiento a los pacientes:

La terapia de toxoide consistió en la inoculación de 0.05 ml de toxoide s.c. durante cinco días consecutivos, al término de estas fue aplicada una inoculación semanal en la misma dosis y durante tres semanas. (Cada ml. de toxoide contiene 0.0628 mg de toxina desecada).

Simultáneamente se aplicó en forma subcutanea la bacterina a dosis de 0.1 ml. siguiendo el mismo calendario de aplicación que el toxoide. (Cada ml. de bacterina posee aproximadamente 50 millones de bacterias).

La terapia de antibiótico consistió en la aplicación por vía oral de aquel antibiótico que resultara de mayor eficacia según la prueba de sensibilidad durante un período mínimo de 14 días.

RESULTADOS

En el 100% de los casos las lesiones desaparecieron totalmente y no reaparecieron durante los tres meses posteriores al tratamiento.

En 10 de los casos el agente causal fué *Staphilococcus aureus* y en 2 de los casos el responsable fué *Staphilococcus epidermidis*.

En todos los casos existió producción de toxinas por el agente causal.

Según los resultados de las pruebas de antibiograma 60% de los casos resultaron sensibles a gentamicina, 30% sensibles a lincomicina y un 10% sensibles a cloxacilina.

El costo del tratamiento fué de aproximadamente \$ 9500.00 m.n.

En solo uno de los animales se presentó una reacción alérgica a la aplicación del toxoide y la bacterina manifestando inflamación en la zona de aplicación, salivación y un ligero edema en párpados y bellos, esto ocurrió durante la última aplicación y no fué necesario aplicar ningún tratamiento para la resolución de esta problema.

Los resultados se muestran gráficamente en el cuadro siguiente:

RAZA	EDAD	SEXO	AGENTE CAUSAL	ANTI BIOTICO	RESPUESTA
Golden Retriever	3	M	<u>S. aureus</u>	L	E
Pastor Alemán	3	M	<u>S. aureus</u>	G	E
Gran Danés	2	H	<u>S. aureus</u>	G	E
Samoyedo	4	H	<u>S. epidermidis</u>	G	E
Doberman	4	M	<u>S. aureus</u>	L	B
Pastor Inglés	3	M	<u>S. epidermidis</u>	G	E
Gran Danés	1	M	<u>S. aureus</u>	C	E
Pastor Alemán	2	M	<u>S. aureus</u>	L	E
Pastor Alemán	3	M	<u>S. aureus</u>	G	E
Pointer	4	M	<u>S. aureus</u>	G	E

RAZA	EDAD	SEXO	AGENTE CAUSAL	ANTIBIOTICO	RESPUESTA
Criollo	3	M	<u>S. aureus</u>	G	E
Maltés	8	M	<u>S. aureus</u>	L	E

Antibióticos: L= LINCOMICINA G= GENTAMICINA C= CLOXACILINA

La respuesta fué calificada como excelente cuando las lesiones desaparecieron en un período menor de 14 días y no se presentó recurrencia de estas en los tres meses posteriores.

DISCUSION:

La mayoría de los casos presentó una respuesta al tratamiento catalogada como excecante ya que en ninguno de los casos se presentó recurrencia de las lesiones en los tres meses posteriores al tratamiento.

No puede determinarse con este estudio si la efectividad de los resultados es debida al toxoide, la bacterina, elantibiótico o a la combinación de los tres factores.

Debe de recordarse que los animales sometidos al estudio presentaban cronicidad de las lesiones y resistencia al tratamiento antibiótico, por lo que no puede pensarse que únicamente con el uso de este se haya resuelto el problema.

Puede considerarse que con el uso del toxoide se bloquean los efectos de la toxina, por lo que al no producirse vasoconstricción ni zona de necrosis y evitándose el efecto de la leucocidina es reducida la patogenicidad del agente causal y es posible la llegada del antibiótico a dosis terapéuticas en la zona de la lesión.

Con el uso de la bacterina se promueve el desarrollo de la respuesta inmune contra los antígenos del cuerpo bacteriano.

CONCLUSION

La efectividad de este tratamiento fué del 100% obteniéndose un nivel de éxito superior al de otros trabajos reportados.

Los animales sometidos al estudio fueron mayores de dos años en el 100% de los casos

Gentamicina, Lincomicina y Cloxacilina fueron los antibióticos que presentaron una mayor eficacia.

Ampicilina y Penicilina demostraron carecer de eficacia al tratamiento de las piодermas crónicas ya que en el 100% de los casos se presentó factor de resistencia por parte de los agentes causales.

Los agentes aislados fueron en la totalidad de los casos del género Estafilococo.

La mayoría de los casos presentados en este estudio fueron hembras.

EI BLIOGRAFIA

- 1.- Austin, V.H.
Diagnosis and Treatment of Canine Pyoderma
Modern Veterinary Practice
May 1978

- 2.- Baker, E.P.
Canine Pyoderma
Veterinary Therapy Saunder Philadelphia
April 1974

- 3.- Baker E.P.
Staphylococcal Disease
Veterinary Clinics of North America
(4) 1974 116-117

- 4.- Barret, J.T.
Inmunología
Ed. Interamericana
México 1978

- 5.- Berkaw, R.
El Manual Merck
Rahway N.J. Merck Sharp Dome
Research Lab. 1978

- 6.- ~~Boyd~~, R.F.
Medical Microbiology
Little Brown and Co.
1a Edición Boston 1980
- 7.- Bradshaw L.J.
Microbiología de Laboratorio
Ed. Manual Moderno
1a Edición México 1976
- 8.- Canine Medicine
Modern Veterinary Textbook Series
1968.
- 9.- Goodman L.M.
Bases Farmacológicas de la terapéutica
Ed. Interamericana
México 1981
- 10.- Grant, D.
Canine Pyoderma
Vetrinary Dermatology Newsletter
(1984) 9 (1) 10-15

- 11.- Gustafson, G.T.
Hipersensitividad Mecanismos in Bacterial Inflammation
Acta Patology Microb. Scand.
(74) 1968 127-138
- 12.- Halliwell, R.E.
Canine Skin Disease
Small Animal Vet. Med. Update Series 12
Vet. Publications Inc. 1-8
- 13.- Heyningen, W.E.
Genera Characteristics of Toxoids
J.A.A.H.A. 1981 (7) (3)
- 14.- Jawetz y Melnick
Manual de Microbiología Médica
Ed. Manual Moderno
3a Edición México 1981
- 15.- Kelly, V.R.
Dianóstico Clínico Veterinario
C.E.C.S.A
4a Edición México 1981

- 16.- Kirk, R.V.
Terapéutica Veterinaria
C.E.C.S.A.
México 1984
- 17.- Kunkle, G.A.
Canine Pyoderma
Compendium of Continuing Education
1978
- 18.- Litter M.
Farmacología
Ed. El Ateneo
Buenos Aires Argentina 3a ED. 1964
- 19.- Mueller and Kirk
Small Animal Dermatology
W. B. Sanders Co.
1976
- 20.- Nesbitt G.H.
Chronic Bacterial Dermatitis
J.A.A.H.A.
13 (1977) 442-450

- 21.- Pukay, J.
Use of Bacterine-Toxoid Mixture in treatment of
Bacterial Hipersensitivity
J.A.A.H.A. (1985)
- 22.- Randolph, R. V.
Antimicrobial Therapy for Pyoderma in Dog
Modern Veterinary Practice
1985 (66) 12 988-994
- 23.- Scott, D. W.
Staphylococcal Hipersensitivity in Dog
J.A.A.H.A 1978 (14) 6 766-779
- 24.- Sheagren, J. N.
Staphylococcus aureus, The Persistent Patogen
New England Journal of Medicine
1984 (21) 310 1368-1373
- 25.- Sheiffer, G. J.
Microbiología Médica
Ed. Salvat
Barcelona 1981

- 26.- Vard, G.E.
Characteristics of Staphilococci isolated from dogs with Pyoderma
Abstracts of Paper. Conference of Research Workers in Animal Disease.
Chicago November 1983 (64) 7
- 27.- Weisser, R.M.
Fundamentals of Immunology
Lea and Febiger
Filadelfia 1969
- 28.- Wisselink, M.A.
Chronic Deep Pyoderma in a German Shepherd
Canine Practice (1984) 11 (3) 35-37
- 29.- Zamora G.J.
Guía de Diagnóstico clínico de las Enfermedades de la Piel
F.E.S.C. U.N.A.M.
1984 1-11
- 30.- Zapatero E.
Microbiología Médica
Ed. Aldus S.A.
Santander España 1972